

URZĄD PATENTOWY RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

PRIORITY DOCUMENT



REC'D 24 DEC 1997
WIPO PCT

ZAŚWIADCZENIE

Polska Akademia Nauk
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
imienia Ludwika Hirszfelda
Wrocław , Polska

złożyła w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej dnia .. 03. października 1996r.
podanie o udzielenie patentu na wynalazek pt. „ Środek farmaceutyczny o działaniu immuno
i psychotropowym, postać terapeutyczna środka farmaceutycznego o działaniu
immuno i psychotropowym oraz sposób leczenia chorób o podłożu immuno-
logicznym i psychicznym ”.

Dołączone do niniejszego zaświadczenia opis wynalazku i zastrzeżenia patentowe
są wierną kopią dokumentów złożonych przy podaniu w dniu 03 października 1996r.

Podanie złożono za numerem P.316416

Wa

19 listopada 1997r.

PREZES

Dr hab. med. M. Krawiec

Srodek farmaceutyczny o działaniu immuno i psychotropowym, postać terapeutyczna środka farmaceutycznego o działaniu immuno i psychotropowym oraz sposób leczenia chorób o podłożu immunologicznym i psychicznym

Przedmiotem wynalazku jest środek farmaceutyczny o działaniu immuno i psychotropowym, postać terapeutyczna środka farmaceutycznego o działaniu immuno i psychotropowym oraz sposób leczenia chorób o podłożu immunologicznym i psychicznym.

Srodek przeznaczony jest zwłaszcza do leczenia przewlekłych chorób centralnego układu nerwowego, przewlekłych chorób o etiologii bakteryjnej i wirusowej oraz do leczenia niedoborów immunologicznych powstałych po chemioterapii i radioterapii nowotworów.

Wynalazek dotyczy środka farmaceutycznego o działaniu immuno i psychotropowym, którym jest polipeptyd oznaczony "PRP", dalej nazywany Colostrinin, o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowany z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, o wysokiej zawartości reszt proliny, wynoszącej 22%, o składzie aminokwasowym z następującą liczbą reszt na podjednostkę, to jest: lizyna - 2, histydyna - 1, arginina - 0, kwas asparginowy - 2, treonina - 4, seryna - 3,

kwas glutaminowy - 6, prolina - 11, glicyna - 2, alanina - 0, walina - 5, metionina - 2, izoleucyna - 2, leucyna - 6, tyrozyna - 1, fenyloalanina - 3 i cysteina - 0; otrzymywany z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej. To samo działanie ma nonapeptyd, dalej oznaczony jako "NP", o następującym składzie i sekwencji aminokwasów: Val-Glu-Ser-Tyr-Val-Pro-Leu-Phe-Pro, otrzymany z wymienionego polipeptydu Colastrinin poprzez trawienie chymotrypsyną i izolację metodą chromatografii kolumnowej, bądź na drodze syntezy chemicznej.

Wynalazek dotyczy także postaci terapeutycznej środka farmaceutycznego o działaniu immuno i psychotropowym, w formie iniekcji i w formie dostosowanej do wchłaniania przez ślinę oraz z przewodu pokarmowego, z ewentualnym dodatkiem cukrów prostych, wielocukrów, nośników i wypełniaczy. Istota wynalazku polega na tym, że jednostka dozownicza zawiera 25 - 1000 µg polipeptydu "PRP", dalej nazwanego Colostrinin o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowanego z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, o wysokiej zawartości reszt proliny, wynoszącej 22%, o składzie aminokwasowym z następującą liczbą reszt na podjednostkę, to jest: lizyna - 2, histydyna - 1, arginina - 0, kwas asparginowy - 2, treonina - 4, seryna - 3, kwas glutaminowy - 6, prolina - 11, glicyna - 2, alanina - 0, walina - 5, metionina - 2, izoleucyna - 2, leucyna - 6, tyrozyna - 1, fenyloalanina - 3 i cysteina - 0; otrzymywanego z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej albo stosuje się 25 - 1000 µg monapeptydu, dalej oznaczonego jako "NP", o następującym składzie i sekwencji aminokwasów: Val-Glu-Ser-Tyr-Val-Pro-Leu-Phe-Pro, otrzymywanego

z polipeptydu Colostrinin poprzez trawienie chymotrypsyną i izolację metodą chromatografii kolumnowej, bądź na drodze syntezy chemicznej.

W dalszym aspekcie wynalazek dotyczy sposobu leczenia chorób o podłożu immunologicznym i psychicznym. Istota wynalazku polega na podawaniu chorym w okresie 2-4 tygodni 1-2 jednostek terapeutycznych dziennie, z przerwą 2-4 tygodni i co najmniej jednym powtórzeniem cyklu, przy czym jednostka terapeutyczna zawiera 25 - 1000 µg bogatego w pralinę polipeptydu "PRP" dalej nazwanego Colostrinin lub nonapeptydu, dalej oznaczonego jako "NP". Polipeptyd Colostrinin o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowany jest z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, ma wysoką zawartość reszt proliny wynoszącą 22% i skład aminokwasowy z następującą liczbą reszt na podjednostkę, to jest: lizyna - 2, histydyna - 1, arginina - 0, kwas asparginowy - 2, treonina - 4, seryna - 3, kwas glutaminowy - 6, prolina - 11, glicyna - 2, alanina - 0, walina - 5, metionina - 2, izoleucyna - 2, leucyna - 6, tyrozyna - 1, fenyloalanina - 3 i cysteina - 0. Otrzymywany jest z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej. Nonapeptyd "NP" ma następujący skład i sekwencję aminokwasów: Val-Glu-Ser-Tyr-Val-Pro-Leu-Phe-Pro i jest otrzymywany z polipeptydu Colostrinin poprzez trawienie chymotrypsyną i izolację metodą chromatografii kolumnowej bądź na drodze syntezy chemicznej.

Podczas badań na zwierzętach doświadczalnych stwierdzono, że bogaty w pralinę polipeptyd Colostrinin i wykazujący pełne spektrum jego aktywności biologicznej, nonapeptyd "NP", charakteryzują się działaniem immunotropowym, zarówno in vivo,

jak *in vitro*, polegającym między innymi na wywoływaniu różnicowania i dojrzewania mysich tymocytów do aktywnych komórek T oraz pobudzaniu lub hamowaniu odpowiedzi immunologicznej, a także powodowaniu zmian ekspresji różnych markerów powierzchniowych na tymocytach. W podaniu dootrzewnowym u myszy polipeptyd Colostrinin lub nonapeptyd "NP" hamuje rozwój anemii hemolitycznej, hamuje wzrost mięsaka 180, a u myszy naświetlanych promieniami gamma chroni zwierzęta przed chorobą popromienną. Badania toksykologiczne na myszach wykazały zarówno po podaniu doustnym jak i parenteralnym bardzo niską toksyczność LD_{50} wynosi powyżej 1,25 g/kg. Polipeptyt Colostrinin wykazuje także zdolność do pobudzania wzrostu dojrzewania i różnicowania się komórek T.

W warunkach naturalnych bogaty w pralinę polipeptyd Colostrinin obecny w sianie dużych zwierząt hodowlanych takich jak krowy, konie, kozy, świnie, a zwłaszcza owce w okresie 1 - 4 dni po porodzie, przenika do organizmu noworodka w czasie ssania i połykania pokarmu. Dzięki niskiemu ciężarowi cząsteczkowemu istnieje możliwość podawania go przez śluzówkę jamy ustnej, w wyniku zwykłej dyfuzji. Ponieważ śluzówka i nabłonek górnej części przewodu trawiennego zawierają receptory dla niektórych immunomodulatorów, wykazano w badaniach, że polipeptyd Colostrinin bądź nonapeptyd "NP" mogą być podawane w formie tabletek do ssania, tabletek i lingwetek do łykania oraz w postaci żeli adhezyjnych i plastrów adhezyjnych do mocowania na dziąsłach.

Badania naukowe idące w kierunku wykazania indukcyjnych właściwości wymienionego polipeptydu wykazały istnienie dalece podobnej aktywności biologicznej przy stosowaniu siary pochodzącej od kobiet, zbieranej w okresie 2 - 4 dób po porodzie. Stosowana metoda izolacji polipeptydu Colostrinin pochodzenia

ludzkiego była analogiczna do sposobów otrzymywania z siary zwierząt hodowlanych, a szczególnie z siary owiec. Wykazano, że polipeptyd Colostrinin pochodzenia ludzkiego ma wiele właściwości biologicznych identycznych np. z owczym analogiem. Stwierdzono także, że siara wydzielana przez gruczoł mlekowy kobiet od 1 - 7 dnia po porodzie, zawiera polipeptyd Colostrinin, którego ilość jest zależna od laktacji i optymalna pomiędzy 2 - 3 dniem, kiedy to wykrywa się go około 300 mg w 1 litrze siary. Okazało się, że Colostrinin pochodzący z siary kobiet pobudza zarówno leukocyty obecne w sianie, jak też izolowane z krwi pępowinowej noworodka, do wydzielania cytokin, w tym głównie interferonu IFN - γ , czynnik nekrozy nowotworów TNF - α , interleukiny IL-6 oraz innych. Cytokiny te uczestniczą w humoralnych i komórkowych reakcjach odpornościowych.

Określanie tych aktywności biologicznych polipeptydu Colostrinin i nonapeptydu "NP", zarówno pochodzenia ludzkiego jak też zwierzęcego, przeprowadzano metodą znaną z patentu europejskiego nr 92920622.5 pt.: Testing Immunology.

W badaniach na ochotnikach ludzkich wykazano, że po podawaniu do ssania tabletek, zawierających przynajmniej 25 μ g polipeptydu Colostrinin i nonapeptydu "NP", w dawkach co najmniej jednej dziennie, przez czas około 3 tygodni, rozwija się stan hyporeaktywności na indukcję interferonu IFN - γ i częściowo także czynnika nekrozy nowotworów TNF - α , zaś po zaprzestaniu podawania polipeptydu Colostrinin lub nonapeptydu "NP" stan tolerancji samoistnie wygasa, co jest wynikiem gry cytokin produkowanych przez limfocyty Th1 i Th2 oraz komórek wspomagających.

Podczas badań klinicznych wykazano ponadto, że polipeptyd Colostrinin i nonapeptyd "NP" mają korzystne działanie psychotropowe.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w następujących przykładach.

Przykład I. Polipeptyd Colostrinin o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowany z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, ma następujący skład aminokwasowy:

Aminokwas	Liczba reszt na podjednostkę
Lizyna	2
Histydyna	1
Arginina	0
Kwas asparginowy	2
Treonina	4
Seryna	3
Kwas glutaminowy	6
Prolina	11
Glicyna	2
Alanina	0
Walina	5
Metionina	2
Izoleucyna	6
Tyrozyna	1
Fenylalanina	3
Cysteina	0

Polipeptyd Colostinin otrzymuje się z siary owiec, pobranej w okresie do 12 godzin od wykończenia, przez wirowanie przy 35000 x g w celu usunięcia tłuszczów i kazeiny. Otrzymaną serwatkę traktuje się DEAE - Sefadeksem, w celu izolacji immunoglobulin IgG2 ^{i następnie polipeptydu Colostrinin} ~~za~~ pomocą chromatografii kolumnowej na Sefadeksie G-100 i rechromatografuje się na Sefadeksie G-75. Następnie frakcję tego polipeptydu nanosi się na kolumnę z Sefarozą skoniugowaną z przeciwciałem anty - IgG2 owiec. Otrzymany preparat odsala się za pomocą Sefadeksu G-25 i liofilizuje, po czym przechowuje w temperaturze + 4°C lub - 20°C. W elektroforezie w żelu poliakryloamidowym obserwuje się silny prążek, odpowiadający ciężarowi cząsteczkowemu 5800 i dwa słabe prążki odpowiadające ciężarowi cząsteczkowemu 12400 i 18200.

Przykład II. Nonapeptyd "NP" o składzie i sekwencji aminokwasów: Val-Glu-Ser-Tyr-Val-Pro-Leu-Phe-Pro, wytwarzany jest z polipeptydu Colostrinin, otrzymanego według przykładu I.

50 mg polipeptydu Colostrinin trawi się za pomocą 10 jednostek aktywności enzymu proetolitycznego chymotrypsyny, przez 20 godzin w temperaturze 30°C. Izolację z produktu trawienia przeprowadza się za pomocą co najmniej jednego cyklu chromatografii kolumnowej, z użyciem Sefadeksu G-10. Otrzymany preparat liofilizuje się, po czym przechowuje w temperaturze + 4°C lub - 20°C. Identyfikację wyizolowanego nonapeptydu "N" przeprowadza się za pomocą oznaczeń N - końcowego aminokwasu.

Przykład III. Jednostka dozownicza w postaci tabletki do ssania o składzie:

Składnik aktywny	- Polipeptyd Colostrinin	- 100 µg
	otrzymany według przykładu I	
Stabilizator	Albumina	135 µg
	Stearynian magnezu	3000 µg
	Chlorek sodu	0.0001 M
Nośnik	Mannitol	ad 150 mg

Tabletki do ssania przeznaczone są do leczenia wczesnych i późnych stadiów choroby Alzheimera, w tym stanów otępiennych, do leczenia przewlekłych infekcji bakteryjnych i wirusowych, wymagających nieswoistej immunostymulacji i immunokorekcji oraz niedoborów immunologicznych o różnej etiologii. Ponadto stosuje się je w zaburzeniach emocjonalnych u pacjentów psychiatrycznych w celu poprawy samopoczucia oraz stabilizacji nastroju, a także we wspomagającym leczeniu odwykowym u narkomanów, po okresie detoksykacji i u osób uzależnionych od używek.

Przykład IV. Preparat w postaci żelu do nanoszenia na błony śluzowe o składzie:

Składnik aktywny	- Polipeptyd Colostrinin	otrzymany według przykładu I
Nośnik żelowy	- Orabase - Plain	zawierający pektynę, żelatynę, sól sodową karboksymetylocelulozy i żel węglowodorowy
Stabilizator	- Albumina	

Na 1 ml nośnika żelowego stosuje się 300 µg polipeptydu Colostrinin oraz 1,5 mg albuminy. Tak utworzona jednostka dozownicza przeznaczona jest do cyklicznego leczenia zakażeń bakteryjnych i wirusowych jamy ustnej oraz górnych dróg oddechowych.

Przykład V. Preparat w postaci iniekcji domięśniowych, podskórnych lub dożylnych.

Składnik aktywny - Polipeptyd Colostrinin otrzymany według przykładu I lub nonapeptyd "NP" otrzymany według przykładu II

Nośnik - Sterylna, niepyrogenna woda

Stabilizator - Albumina.

Na 1 ml ampułkę stosuje się 300 µg polipeptydu Colostrinin lub nonapeptydu "NP", 1,5 mg albuminy i jako środek przeciwbakteryjny 0,001 % mertiolatu, to jest soli sodowej kwasu etylo-merkurotiosalicylowego. Tak otrzymana jednostka dozownicza przeznaczona jest do cyklicznego leczenia zakażeń bakteryjnych i wirusowych.

Przykład VI. Indukcję cytokin przez polipeptyd Colostrinin in vitro na krwi pobranej od zdrowych i chorych ochotników, przyjmujących środek farmaceutyczny w postaci podanej w przykładzie III, w cyklicznym leczeniu, przeprowadza się następująco.

Pełną krew, zawierającą 10 jednostek na 1 ml heparyny bez środków konserwujących rozcieńcza się w stosunku 1 : 10 w pożywce RPMI 1640. Inkubację prowadzi się w samej pożywce (kontrola negatywna), albo w obecności polipeptydu Colostrinin lub nonapeptydu "NP" albo w obecności 2 µg/ml krwi fitohemaglutyniny (PHA) i 2 µg/ml krwi lipopolisacharydu (LPS), w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% dwutlenku węgla, w czasie 20 godzin. Próbkę z PHA i LPS stanowią kontrolę pozytywną. Kontrola negatywna na krwi inkubowanej w obecności samej pożywki wykazała stężenie poniżej 10 jednostek na 1 ml krwi dla interferonu (IFN) i czynnika nekrozy nowotworów (TNF). Kontrola pozytywna na krwi

inkubowanej w obecności fitohemaglutyniny i lipopolisacharydu wynosiła dla interferonu (IFN) 60 (20-200) i dla czynnika nekrozy nowotworów (TNF) 80 (30-400). IFN i TNF oznaczono ilościowo metodami biologicznymi. Wyniki badań przedstawiono w poniższych tabelach.

Tabela 1. Indukcja cytokin przez Colostrinin pochodzenia owczego w hodowlach leukocytów z krwi obwodowej krwiodawców

Induktory	Liczba bada- nych prób	Średnia miara cytokin \pm SD	
		IFN U/ml	TNF U/ml
-	32	1.2 ± 0.9 (< 3 - 5)	4.8 ± 6.9 (< 3 - 30)
PHA + LPS (2 + 2)	25	386.4 ± 412.9 (100 - 2000)	580.4 ± 550.2 (80 - 2200)
Colostrinin (100)	15	54.4 ± 73.0 (10-300)	163.6 ± 191.2 (30 - 750)
Colostrinin (10)	32	21.6 ± 36.5 (3-200)	115.0 ± 144.9 (10-250)
Colostrinin (1)	12	9.6 ± 10.5 (3-30)	50.1 ± 66.4 (10-80)

Tabela 2. Indukcja cytokin przez Colostrinin pochodzenia owczego w hodowli leukocytów obecnych w pełnej krwi ludzi zdrowych i pacjentów z chorobą Alzheimera

Grupa	Czasokres zbioru	liczba badanych prób	Źródło krwi	Induktory (µg/ml)	Średnie miana cytokin ± SD	
					IFN U/ml	TNF U/ml
1	1993 - -1995	15- -22	Zdrowi ochotnicy	-	9.4 ± 21.1 (< 3 - 20)	18.6 ± 26.2 (< 5 - 80)
				PHA + LPS (2 + 2)	171.4 ± 161.7 (20 - 600)	521.1 ± 447.0 (125 - 800)
				Colostrinin (100)	344.0 ± 254.3 (20-600)	670.0 ± 559.7 (250-1600)
				Colostrinin (10)	50.2 ± 58.9 (5 - 200)	316.4 ± 371.0 (50 - 750)
2	1993- -1994	33- -50	Pacjenci z chorobą Alzheimera	-	2.3 ± 2.6 (< 3 - 10)	17.7 ± 26.1 (< 3 - 80)
				PHA + LPS (2 + 2)	117.5 ± 75.9 (60 - 300)	396.6 ± 251.7 (80 - 750)
				Colostrinin (100)	20.5 ± 14.1 (10 - 70)	248.8 ± 187.0 (80 - 750)
				Colostrinin (10)	14.7 ± 8.9 (5 - 20)	182.3 ± 158.2 (80 - 500)
3	1995	86- -93	jak wyżej	-	1.6 ± 2.3 (< 3 - 20)	1.7 ± 1.9 (< 5 - 15)
				PHA + LPS (2 + 2)	61.2 ± 52.6 (20 - 200)	282.1 ± 198.2 (125 - 750)
				Colostrinin (20)	15.2 ± 16.5 (< 3 - 70)	130.1 ± 105.0 (50 - 500)

Grupa 1 była heterogenna (wiek dawców 20 - 64 l).

Grupa 2 obejmowała pacjentów z chorobą Alzheimera w różnych stadiach choroby. Grupę tę podzielono na 2 podgrupy dlatego, że w wymienionych latach używano dwóch różnych zestawów induktorów.

Tabela 3. Indukcja cytokin przez Colostrinin pochodzenia owczego w porównaniu z syntetycznym nonapeptydem "NP"

Induktor ($\mu\text{g/ml}$)	Średnia miana cytokin \pm SD (rozrzut)	
	IFN (U/ml)	TNF (U/ml)
-	7.2 ± 4.1 (1 - 10)	22.0 ± 11.0 (10 - 30)
PHA + LPS (2 + 2)	380.0 ± 204.9 (200 - 600)	820.0 ± 486.0 (250 - 1600)
Colostrinin (100)	450.0 ± 212.0 (300 - 600)	1175.0 ± 601.0 (750 - 1600)
Colostrinin (10)	200.0 ± 100 (100 - 300)	837.5 ± 560.3 (250 - 1600)
Colostrinin (1)	100.0 ± 00 (100)	$750.0 \pm 0,0$ (750)
NP (100)	$25,0 \pm 10.0$ (20-40)	207.5 ± 85.0 (80-250)
NP (10)	$10.3 \pm 7,8$ (1-20)	$102.8 \pm 105,0$ (1-250)

Do doświadczeń użyto próbek krwi otrzymanej od 5 młodych sportowców, których leukocyty bardzo dobrze odpowiadały na stymulację przez różne induktory IFN - γ . Każdą próbkę leukocytów badano oddzielnie.

Tabela 4. Przykłady aktywności induktorowej polipeptydu Colostrinin pochodzenia owczego w doświadczeniach przy użyciu pełnej krwi zdrowych ochotników oraz pacjentów z różnymi chorobami

Badana osoba (diagnoza)	Induktory (μ /ml)	Miana IFN mierzone metodą:	
		Biotest 1 antywirusowy (U/ml)	ELISA 2 IFN- γ pg/ml
Z.B. zdrowy młody żołnierz	-	< 3	24
	PHA + LPS (2+2)	200	3308
	Colostrinin (100)	300	2920
	Colostrinin (10)	300	3402
	Colostrinin (1)	100	1413
C.D. zdrowy młody żołnierz	-	5	55
	PHA + LPS (2+2)	600	4631
	Colostrinin (100)	600	3941
	Colostrinin (10)	200	3778
	Colostrinin (1)	100	2690
S.E. Schizofrenik	-	3	19
	PHS + LPS (2+2)	30	243
	Colostrinin (100)	6	29
	Colostrinin (10)	6	29
M. J. Choroba Alzheimera	-	3	46
	PHA + LPS (2+2)	300	3757
	Colostrinin (100)	40	400
	Colostrinin (10)	20	427
F.W. rak piersi	-	40	150
	PHA + LPS (2+2)	600	2833
	Colostrinin (100)	70	523
	Colostrinin (10)	50	307

1/ Biotest mierzy poziomy różnych interferonów

2/ ELISA mierzy tylko IFN - γ

3/ Pacjent S.E. otrzymywał leki uspokajające

4/ Pacjentka M.J. była w wczesnej fazie choroby Alzheimera

5/ Pacjentka F.W. była w stanie remisji choroby po operacji

Przykład VII. Indukcję cytokin przez polipeptyd Colostrinⁱⁿ ⁱⁿvitro na leukocytach krwi pępowinowej pobranej w 4 - 6 godzin po porodzie przeprowadza się w następujący sposób

Leukocyty izoluje się przy użyciu gradientu Ficoll - Paque zawierającego na 100 ml 5,7 g składnika Ficoll 400 oraz 9,0 g składnika Diatrizoate Sodium. Izolowane leukocyty zawiesza się w pożywce RPMI - 1640 przy gęstości 4×10^6 komórek na 1 ml pożywki. Do zawiesiny leukocytów dodaje się polipeptyd "PRP" w stężeniu 2,5 µg/ml lub mieszaninę fitohemaglutyniny w stężeniu 10 µg/ml i polipeptydu "PRP" w stężeniu 2,5 µg/ml. Hodowlę inkubuje się przez 20 godzin w temperaturze 37°C. Następnie w płynach pochodowlanych oznacza się poziom cytokin metodami biologicznymi. Typowy przykład podaje poniższa tabela.

Dawca krwi pępowinowej	Stymulator w µg/ml	Cytokiny stymulowane	
		Interferon IFN w jedn./ml	Czynnik nekrozy nowotworów TNF w jedn./ml
Noworodek matki RO	PRP (2,5)	4,5	45,0
Krew badana	PHA (10)	4,5	45,0
w 6 godzin	PRP (2,5) + + PHA (10)	200,0	400,0
po porodzie	Kontrola pożywki bez stymulatora	4,5	10,0

Ponieważ krew pępowinowa jest bogata w niedojrzałe komórki pnia, które są zdolne do odtwarzania zarówno komórek krwiotwórczych jak i różnych komórek immunologicznie czynnych, uzyskany wynik świadczy o tym, że polipeptyd Colostrinin wybitnie przyspiesza dojrzewanie komórek pnia. Uzyskane wyniki świadczą o możliwości stosowania polipeptydu Colostrinin do leczenia niedoborów odpornościowych oraz do pobudzania systemu krwiotwórczego, np. po urazach, infekcjach, chemioterapii i radioterapii. W badaniach biomedycznych substancje naturalnego pochodzenia o podobnym działaniu spotykane są niezwykle rzadko.

Przykład VIII. Sposób leczenia chorób o podłożu immunologicznym i psychicznym badano na grupie ochotników chorych na wczesne stadia choroby Alzheimera i grupie nosicieli wirusa HIV. Podawano jednostki dozownicze w postaci tabletek do ssania, między posiłkami, zawierające 150 μ g polipeptydu Colostrinin lub nonapeptydu "NP", określonych w przykładzie I i II. Stosowano najpierw 1 tabletkę dziennie przez okres 3 tygodni, następnie przerwano terapię na czas 3 tygodni i powtórzono leczenie, podając 2 tabletki dziennie przez 3 tygodnie. Stwierdzono, że po leczeniu rozwija się stan hyporeaktywności czyli tolerancji na indukcję interferonu IFN i częściowo także na czynnik nekrozy nowotworów TNF, co pozwala na pomiary ilościowe działanie czynnika aktywnego. Po zaprzestaniu podawania tych leków stan tolerancji samoistnie wygasa. Stan przejściowej tolerancji na polipeptyd Colostrinin lub nonapeptyd "NP" jest wynikiem gry cytokin produkowanych przez limfocyty Th1 i Th2 oraz komórek wspomagających takich jak monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne, komórki endotelialne.

W rezultacie zaobserwowano polepszenie kontaktu i podniesienie sprawności psychicznej u chorych na chorobę Alzheimera oraz podwyższenie odporności na infekcje bakteryjne i wirusowe u nosicieli wirusa HIV.

Inż. Irena Włodarczyńska
Rzecznik Pacjentów

DYREKTOR INSTYTUTU

Mordarski
Prof. dr Marian Mordarski

Zastrzeżenie patentowe

1. Środek farmaceutyczny o działaniu immuno i psychotropowym, znamienny tym, że stanowi go polipeptyd, oznaczony "PRP" dalej nazywany Colostrinin o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowany z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, o wysokiej zawartości reszt pryliny wynoszącej 22%, o składzie aminokwasowym z następującą liczbą reszt na podjednostkę, to jest: lizyna = 2, histydyna = 1, arginina = 0, kwas asparginowy = 2, treonina = 4, seryna = 3, kwas glutaminowy = 6, prolina = 11, glicyna = 2, alanina = 0, walina = 5, metionina = 2, izoleucyna = 2, leucyna = 6, tyrozyna = 1, fenyloalanina = 3 i cysteina = 0; otrzymany z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej.
2. Środek farmaceutyczny według zastrz. 1, znamienny tym, że stanowi go nonapeptyd dalej oznaczony jako "NP", o następującym składzie i sekwencji aminokwasów: Val=Glu=Ser=Tyr=Val-Pro=Leu=Phe=Pro, wydzielony z polipeptydu Colostrinin przez trawienie chymotrypsyną i izolację metodą chromatografii kolumnowej, bądź na drodze syntezy chemicznej.

3. Postać terapeutyczna środka farmaceutycznego o działaniu immuno i psychotropowym w formie iniekcji i w formie dostosowanej do wchłaniania przez ślinę oraz z przewodu pokarmowego, z ewentualnym dodatkiem cukrów prostych, wielocukrów, nośników i wypełniaczy, znamienna tym, że jednostka dozownicza zawiera 25 - 1000 µg polipeptydu "PRP", dalej nazwanego Colostrinin o ciężarze cząsteczkowym 18000, zbudowanego z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000, o wysokiej zawartości reszt proliny, wynoszącej 22%, o składzie aminokwasowym z następującą liczbą reszt na podjednostkę, to jest: lizyna = 2, histydyna = 1, arginina = 0, kwas asparaginowy = 2, treonina = 4, seryna = 3, kwas glutaminowy = 6, prolina = 11, glicyna = 2, alanina = 0, walina = 5, metionina = 2, izoleucyna = 2, leucyna = 6, tyrozyna = 1, fenyloalanina = 3 i cysteina = 0; otrzymywany z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej.
4. Postać terapeutyczna środka farmaceutycznego według zastrz. 3, znamienna tym, że jednostka dozownicza zawiera 25 - 1000 µg nonapeptydu, dalej oznaczonego jako "NP", o następującym składzie i sekwencji aminokwasów: Val=Glu=Ser=Tyr=Val=Pro=Leu=Phe=Pro, wydzielony z polipeptydu Colostrinin przez trawienie chymotrypsyną i izolację metodą chromatografii kolumnowej, bądź na drodze syntezy chemicznej.
5. Sposób leczenia chorób o podłożu immunologicznym i psychicznym, znamienny tym, że podaje się chorym w okresie 2-4 tygodni 1-2 jednostek terapeutycznych dziennie, z przerwą

2=4 tygodni = 3 = i co najmniej jednym powtórzeniem cyklu, natomiast jednostka terapeutyczna zawiera 25 = 1000 µg boga- tego w prolinę polipeptydu "PRP" dalej nazwanego Colostrinin lub nonapeptydu oznaczonego jako "NP", przy czym polipeptyd Colostrinin ma ciężar cząsteczkowy 18000 i jest zbudowany z trzech niekowalencyjnie połączonych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 6000 i ma 22% reszt proliny i skład aminokwaso- wy o następującej liczbie reszt (

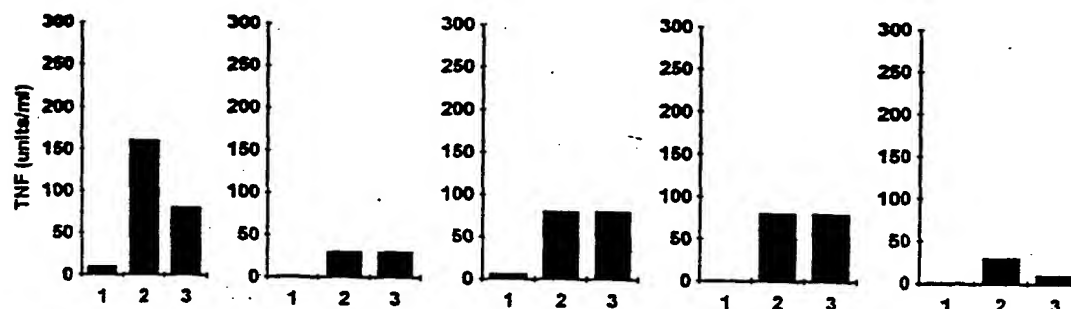
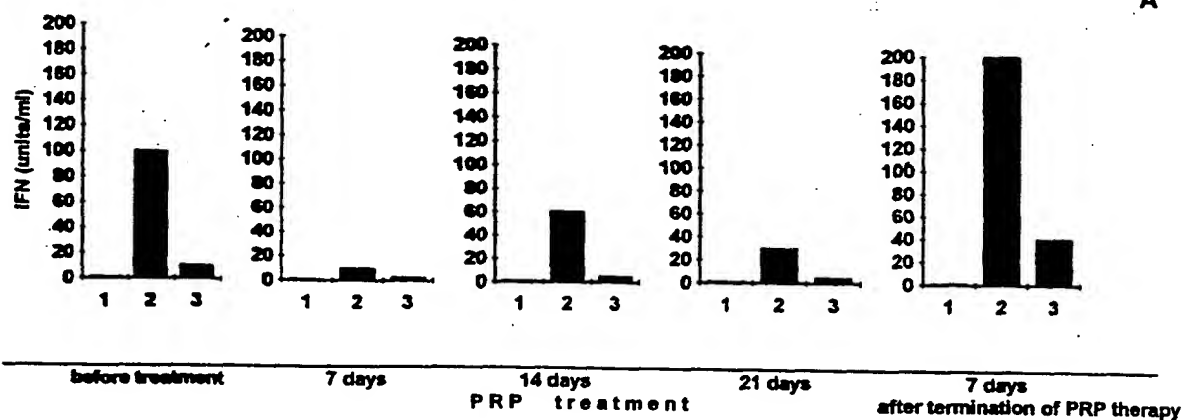
na podjednostkę, to jest: lizyna = 2, histydyna = 1, arginina = 0, kwas asparginowy = 2, treo- nina = 4, seryna = 3, kwas glutaminowy = 6, prolina = 11, glicyna = 2, alanina = 0, walina = 5, metionina = 2, izoleu- cyna = 2, leucyna = 6, tyrozyna = 1, fenyloalanina = 3 i cys- teina = 0; otrzymywany z siary dużych zwierząt hodowlanych zwłaszcza owiec metodą chromatografii kolumnowej, zaś nona- peptyd "NP" ma następujący skład i sekwencję aminokwasów: Val=Glu=Ser=Tyr=Val=Pro=Leu= Phe=Pro i jest otrzymywany z po- lipeptydu Colostrinin poprzez trawienie chymotrypsyną i izo- lację metodą chromatografii kolumnowej, bądź na drodze synte- zy chemicznej.

Inst. Inst. ...
Rzeczniczka ...

DYREKTOR INSTYTUTU

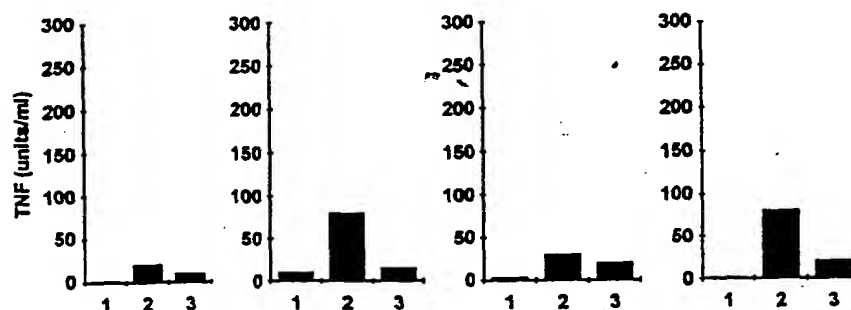
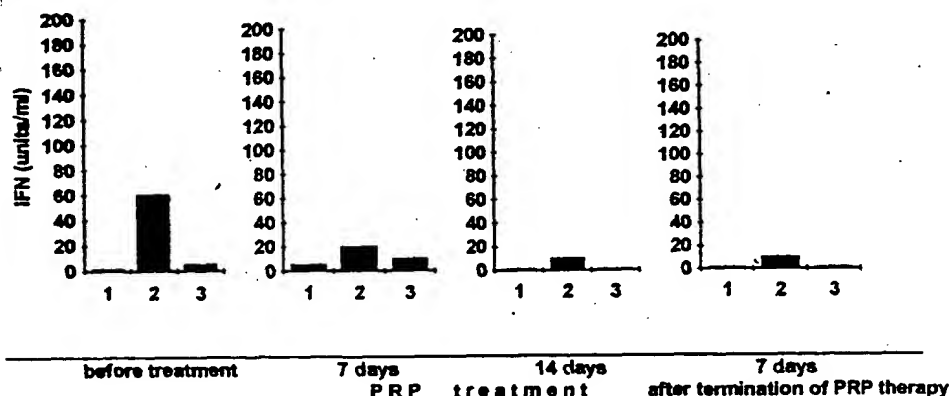
Prof. dr Marian Mordarski

A.1



PRP (100 µg/tab.) -L.R.

B



Rozwój hyporeaktywności na IFN i TNF indukowanych u ochotników którym podawano PRP w tabletkach: 200 µg dziennie (A) lub 100 µg dziennie (B)

DYREKTOR INSTYTUTU

Prof. dr Marian Mordarski

